



Title	Restoration of gut motility in Kit-deficient mice by bone marrow transplantation
Author(s)	石井, 修二
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/54181">https://hdl.handle.net/11094/54181</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	石井修二
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 23311 号
学位授与年月日	平成21年8月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学位論文名	Restoration of gut motility in Kit-deficient mice by bone marrow transplantation (c-kit欠損マウスにおいて骨髄移植が消化管運動を改善させる)
論文審査委員	(主査) 教授 林 紀夫 (副査) 教授 金倉 譲 教授 青笹 克之

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

Hirschsprung 病、肥厚性幽門狭窄症、糖尿病などに伴う消化管運動障害にカハール間質細胞(ICC)の関与が報告されている。ICC は Kit を発現し消化管のペースメーカーとして働くと考えられる。他方、骨髄には多分化能を有する幹細胞が存在する。そこで Kit 変異を持ち ICC の部分欠損による消化管運動障害を有する W/W<sup>v</sup> マウスを用い、骨髄細胞が ICC に分化し、W/W<sup>v</sup> マウスの消化管運動障害を改善するかどうかを検討した。

## 〔方法ならびに成績〕

W/W<sup>v</sup> マウスと遺伝的背景が同じになるように WB マウスと GFP トランスジェニックマウスより F1 マウスを作成した。F1 マウスの管状骨より骨髄細胞を採取し、8.5Gy 放射線照射をした W/W<sup>v</sup> マウスに移植した。同様な方法にて W/W<sup>v</sup> マウスの骨髄細胞を W/W<sup>v</sup> マウスに移植したものを対照群とした。消化管運動を検討するために、両群の全消化管通過時間・胃排出率を測定した。ICC に分化するかを検討するために、F1 マウスの骨髄を移植した W/W<sup>v</sup> マウスを PFA にて灌流固定し消化管の凍結切片を作成し ICC 特異的な AIC 抗体 (anti-ICC antibody) にて免疫染色し蛍光顕微鏡にて観察した。また小腸の粘膜層を剥離した Whole mounts 標本を作成し、抗 GFP 抗体及び抗 c-Kit 抗体 (ACK2) にて二重染色し confocal 顕微鏡にて観察した。さらに形態的に骨髄由来細胞が ICC に分化していることを確認するために、凍結切片に抗 GFP 抗体を用いプレエンベツティング法にて免疫染色を行い電子顕微鏡にて観察した。

Kit 変異のない F1 マウスの骨髄を移植した W/W<sup>v</sup> マウスは対照群に比べ全消化管通過時間が短く胃排出率が良好であり、骨髄移植にて消化管運動が改善していると考えられた。胃、小腸、大腸のいずれの凍結切片においても ICC が存在すると考えられる場所に GFP 陽性 A1C 陽性の細胞が同定できた。また Whole mounts 標本においても GFP 陽性 Kit 陽性の細胞が同定できた。電子顕微鏡においても、内輪筋・外縦筋の間に長い突起を持つ ICC に特徴的な陽性細胞が確認できた。その局在と形態的に双極性で紡錘形でありことより ICC に分化していると考えられた。

#### 〔総括〕

以上より骨髄細胞に ICC ネットワークに導入される細胞が存在することが確認された。W/W<sup>v</sup> マウスでは ICC の発達不全がその消化管運動障害の要因であるが、以上の結果は消化管運動障害に対して骨髄移植が新たな治療法になる可能性を示唆すると考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

消化管の運動調節にカハール間質細胞 (ICC) が消化管のペースメーカーとして働くことが知られているが、ICC の起源に関しては良く分かっていない。そこで、c-kit 変異により ICC が減少し運動障害をきたす W/W<sup>v</sup> マウスに wild type の骨髄を移植し、骨髄細胞が ICC に分化するか否かを検討した。

W/W<sup>v</sup> マウス、W/W<sup>v</sup> と遺伝的背景が同じ WB マウスと GFP Tg マウスの F1 を用いた。F1 の骨髄細胞を W/W<sup>v</sup> マウスに移植し、対照群として W/W<sup>v</sup> マウスの骨髄細胞を W/W<sup>v</sup> マウスに移植した。両群の全消化管通過時間・胃排出率を測定し、正常な F1 マウスの骨髄を移植した W/W<sup>v</sup> マウスは対照群に比べ良好であった。また、消化管を免疫染色・免疫電顕法にて細胞の同定を行い、骨髄細胞が ICC に分化していることが確認できた。

骨髄細胞に ICC ネットワークに導入される細胞が存在することが確認された。消化管運動障害に対して骨髄移植が新たな治療法になる可能性を示唆すると評価され、学位に値するものと認められる。